

**PATRÓN DE PESO DURANTE LA METAMORFOSIS EN DIFERENTES SUSTRATOS DE PUPACIÓN DE LA CEPA SEXADA GENÉTICAMENTE TAPACHULA-7, *Anastrepha ludens*.**

✉ Ángel Humberto de León-Crisostomo<sup>1</sup>, Cristina Silvia Zepeda-Cisneros<sup>1</sup>, José Salvador Meza-Hernández<sup>1</sup>.

Programa Moscafrut, Acuerdo SAGARPA-IICA. Subdirección Sexado Genético. Camino a los Cacahotales S/N, Metapa de Domínguez, Chiapas. México. C. P.30860.

✉ Correo: angel\_cri5@hotmail.com

---

**RESUMEN:** Se estudió la cepa sexada genéticamente "Tapachula-7" desarrollada en el Programa Moscafrut para la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens*, la cual produce hembras de color de pupa negro y machos de color de pupa café. Durante el periodo de pupación se evaluó la pérdida de peso que ocurre en las pupas utilizando tres métodos de pupación. 1) Pupación desnuda. 2) Usando vermiculita como sustrato de pupación y 3) Usando salvado de trigo. Los resultados indicaron que la mayor pérdida de peso ocurre durante los primeros seis días en ambos tipos de pupa. La pérdida total de peso fue para pupa café  $7.4 \pm 0.5$  mg y para pupa negra  $8.52 \pm 0.82$  mg. El efecto de los sustratos sobre la pérdida de peso no fue significativa, sin embargo el patrón de pérdida entre sustratos fue significativamente diferente. El efecto de los sustratos sobre el peso final de las pupas reflejó que utilizando salvado de trigo las pupas macho terminan con menor peso, mientras que en las pupas hembra el método de salvado de trigo fue únicamente significativamente menor a la pupación con vermiculita. Adicionalmente, la longevidad del adulto no fue afectada por el método de pupación usado.

**Palabras clave:** cepa sexada genéticamente, metamorfosis, peso pupa.

**Weight patern during metamorphosis in different pupation medio of the genetic sexing strain Tapachula-7, *Anastrepha ludens*.**

**ABSTRACT:** Genetic sexing strain "Tapachula-7" was studied in the Moscafrut Program for Mexican fruit fly *Anastrepha ludens*, which typically produces females from black pupa and males brown pupa. During the period of pupation the weight loss was evaluated in both color pupa using three methods of substrates to pupation. The results indicated that the greatest weight loss occurs during the first six days in both types of pupae. Total weight loss for brown pupae was  $7.4 \pm 0.5$  mg and for black pupae  $8.52 \pm 0.82$  mg. The effect of substrates on weight loss it showed that using wheat bran the losted was higher in male pupa. While in females pupae the loss using wheat bran was similar to uncovered pupation, but higher than vermiculite. Adult longevity was not affected by the pupation method.

**Keys word:** Genetic sexing strain, development pupae, pupae weight.

---

## INTRODUCCIÓN

La mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* Loew, es considerada una de las plagas más importantes de cítricos y mangos en nuestro país (Norma Oficial Mexicana NOM, 1998). Uno de los métodos de control que se utiliza para el combate de esta plaga frutícola es la técnica del insecto estéril (TIE), que consiste en la liberación masiva de insectos estériles. Ha sido demostrado que la eficiencia de esta técnica se incrementa cuando se liberan únicamente machos (McInnis *et al.*, 2007), lo cual es posible gracias al desarrollo de cepas sexadas genéticamente (CSG). Recientemente para la mosca mexicana de la fruta ha sido desarrollada una CSG, la cual

está basada en la mutación “*pupa negra*” y una translocación Y-autosoma (Zepeda-Cisneros *et al.*, 2014). En esta CSG, llamada “Tapachula-7” los machos presentan un pupario color café, mientras que las hembras lo presentan de color negro.

Actualmente, dicha CSG se encuentra en transición a cría masiva. En este sentido, las dietas artificiales usadas para esta cría proporcionan nutrientes necesarios para el desarrollo óptimo de los estados inmaduros, sobre todo durante la transición de pupa a adulto, ya que incluye un evento de metamorfosis en el que las reservas energéticas acumuladas durante el estado de larva son usadas para obtener energía y la provisión de los precursores anabólicos (Downer y Matthews, 1976). El medio ó sustrato de pupación utilizado durante el proceso de cría masiva, donde se lleva a cabo dicha metamorfosis juega también un papel importante en los insectos que emergerán (Hernández *et al.*, 2003), ya que al ser la pupa un sistema semi-cerrado donde el flujo de energía entre el interior y exterior se mueve en un solo sentido (Downer, 1981), es completamente necesario cuidar las condiciones del exterior para mantener un equilibrio osmótico y las pupas no pierdan agua hasta la deshidratación.

En este trabajo se probó el impacto de tres diferentes sustratos de pupación sobre el patrón de pérdida de peso durante el periodo de metamorfosis, el peso final de las pupas y la longevidad del adulto, tanto en las pupas cafés como en las negras de la CSG Tapachula-7.

## MATERIALES Y MÉTODO

**Sitio de estudio.** El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la subdirección de Sexado Genético, Programa Moscafrut (Acuerdo SAGARPA-IICA), localizado en Metapa de Domínguez, Chiapas.

**Material biológico.** Se utilizó la CSG Tapachula-7, en la generación 63 criada bajo las condiciones descrita por Zepeda *et al.* (2011). Se tomaron dos lotes de larvas con diferentes fechas de siembra. La siembra consistió en colocar 0.5 ml de huevo sobre dos 2 kg de dieta larvaria (Flores-García *et al.*, 2012), contenidos en un recipiente de plástico. Este procedimiento se replicó 10 veces. Posterior a la siembra los recipientes de plástico permanecieron en el cuarto de larvas a una temperatura de  $28\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa de  $60\pm 10\%$ . Diez días después, las larvas fueron separadas de la dieta. Durante la separación larvaria la dieta fue diluida en agua y pasada a través de un tamiz donde las larvas fueron retenidas y lavadas bajo un chorro de agua. Una vez recuperadas las larvas fueron secadas manualmente y de esta población se tomó una muestra de 100 gramos, eliminando las inmaduras que fueron identificadas por la coloración oscura presente en el tracto digestivo. Con un microscopio estereoscópico se identificó el sexo de la larva, mediante la separación por coloración de sus lóbulos anales (lóbulos anales café para larvas macho y negro para larvas hembra) (Zepeda-Cisneros *et al.*, 2014).

**Sustratos de pupación.** Se evaluaron tres diferentes métodos de pupación. 1) Utilizando vermiculita fina Strong Lite<sup>®</sup>, 2) Salvado de trigo, y 3) Sin sustrato de pupación o “pupación desnuda”.

**Patrón de pérdida de peso en la pupa.** Se seleccionaron 48 larvas de cada sexo para ser sometidas a los diferentes métodos de pupación. En una rejilla de plástico compuesta de 24 cedillas de  $3\text{ cm}^3$ , se colocó una larva previamente pesada y se le agregó 1 ml de sustrato de

pupación. En el caso de la pupación desnuda se dejó sin sustrato. Las rejillas ya preparadas fueron llevadas al área de pupas a temperatura de  $24\pm 1$  °C y una humedad relativa de 70-80%, donde permanecieron hasta la emergencia del adulto. El peso de pupa fue registrado diariamente durante los 16 días que duró el estado de pupa.

**Longevidad.** Al momento de la emergencia los insectos fueron anestesiados con éter etílico y transferidos de manera individual en celdillas limpias. Se registró la fecha y hora de la emergencia de cada insecto y se realizaron revisiones periódicas cada 12h, hasta registrar la fecha y hora de la muerte del insecto.

**Análisis de datos.** A partir del registro inicial del peso de la larva y el registro diario del peso de la pupa, se determinó la pérdida de peso diario por sexos para cada método de pupación. Análisis de varianza (ANOVA) para cada día de pupación fueron llevados a cabo, seguido de una prueba de Fisher PLSD ( $\alpha = 0.05$ ) para separación de medias. El peso final de la pupa (16 días) y la longevidad de los insectos fueron también analizados mediante una ANOVA y prueba de Fisher PLSD ( $\alpha = 0.05$ ). Todos los análisis fueron llevados a cabo en el software estadístico StatView Ver. 5.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el registro de pérdida de peso diario en las pupas macho (Fig. 1A), observamos que en el primer día de pupación, la pérdida de peso en los tres sustratos fue estadísticamente diferente ( $F_{2,131}=5.663$ ,  $P=0.0331$ ), las pupas en el salvado de trigo perdieron menos peso que la pupación desnuda y las pupadas en vermiculita. En el segundo día la pérdida de peso también resultó diferente entre sustratos ( $F_{2,131}=8.593$ ,  $P=0.003$ ), la pupación con vermiculita resultó con menor pérdida, mientras que la pupación desnuda y en salvado de trigo fueron similares. Nuevamente en el tercer día, la pérdida de peso fue significativamente diferente ( $F_{2,131}=12.603$ ,  $P<0.0001$ ). A partir del cuarto y hasta el día catorce los métodos de pupación no evidenciaron diferencias significativas. En el día quince la pupación desnuda resultó significativamente menor a la pupación en vermiculita ( $F_{2,131}=3.550$ ,  $P=0.0109$ ). Para el último día de pupación, los tres métodos de pupación no presentaron diferencias significativas ( $F_{2,131}=0.329$ ,  $P=0.7203$ ).

Para el caso de pupas hembras (Fig. 1B), en el primero ( $F_{2,118}=1.638$ ,  $P=0.1987$ ), segundo ( $F_{2,118}=0.971$ ,  $P=0.3817$ ) y tercer día ( $F_{2,118}=0.953$ ,  $P=0.3888$ ) no se registraron diferencias significativas entre los métodos de pupación con una pérdida constante promedio por día de  $2.17\pm 0.216$  mg. Al cuarto día la pérdida fue significativamente diferente entre sustratos ( $F_{2,118}=6.273$ ,  $P=0.0026$ ), siendo la pupación en salvado de trigo donde la pupa registró la mayor pérdida de peso. En el día cinco nuevamente se encontraron diferencias significativas ( $F_{2,118}=3.849$ ,  $P=0.0240$ ), siendo esta vez la pupación en vermiculita la que mayor pérdida registró. El sexto día también se presentó diferencias significativas en los tres métodos ( $F_{2,118}=4.174$ ,  $P=0.0177$ ) resultado la pupación desnuda con la mayor pérdida. Del día siete hasta el catorceavo día, no se registró diferencia. En el día quince la diferencia en pérdida de pesos fue nuevamente diferente ( $F_{2,118}=2.943$ ,  $P=0.0566$ ), con la mayor pérdida registrada en vermiculita y pupación desnuda. Finalmente, en el día 16 no se observaron diferencias significativas ( $F_{2,118}=1.345$ ,  $P=0.2645$ ).

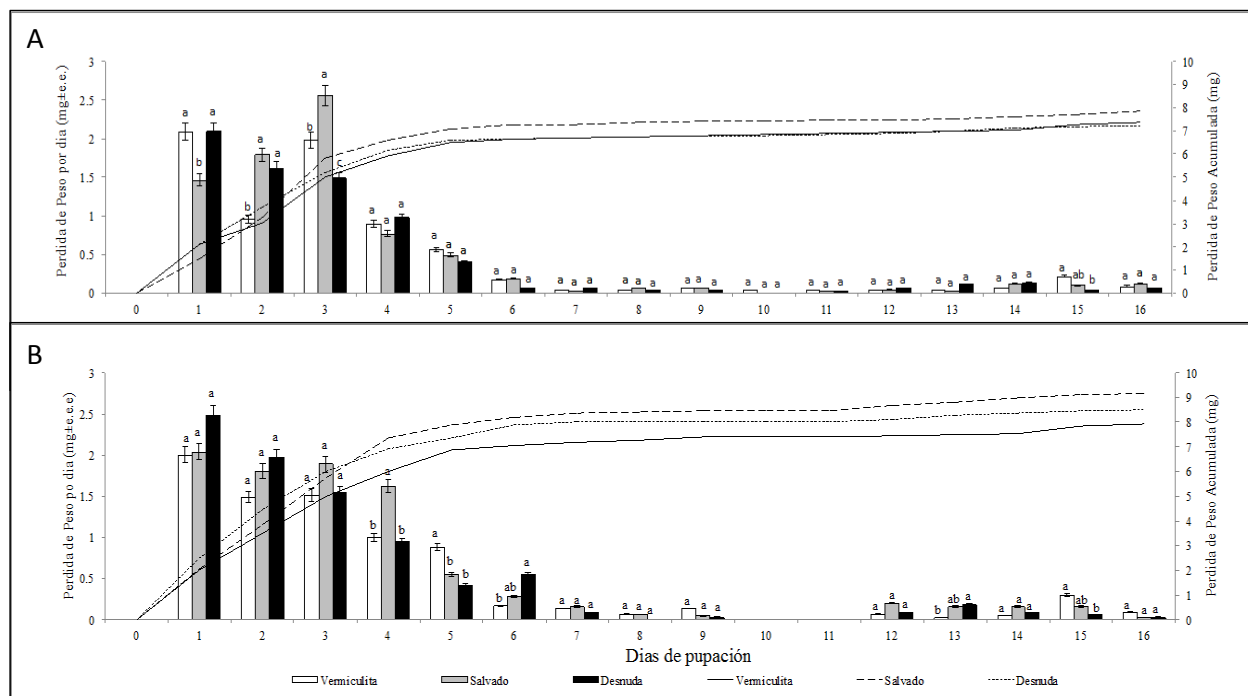


Fig. 1. Patrón de pérdida de peso en las pupas de la cepa sexada genéticamente Tapachula-7 de *A. ludens*, pupadas con diferentes métodos. Pérdida por día (barras) y pérdida acumulada (líneas). A). Pupas macho (puparios café). B). Pupas hembra (puparios negros).

El patrón de pérdida de peso bajo las condiciones de este estudio indicó que la mayor pérdida se lleva a cabo en los primeros cinco a seis días para ambos sexos, con un ligero incremento en la pérdida en los últimos cuatro días. Resultados similares fueron reportados en *C. capitata* donde la desecación ocurre durante los tres primeros días del desarrollo pupal (Langley *et al.* 1972). Se determinó que la pupación en vermiculita y desnuda resultaron similares en la pérdida de peso (27.21% y 27.16%, respectivamente), sin embargo el salvado puede incrementar la pérdida, al absorber agua en lugar de evitar la deshidratación, observándose la mayor pérdida de peso en pupas hembras pupadas en salvado de trigo (31.30%). Aunque en este estudio no se encontraron diferencias entre la pupación desnuda y el uso de vermiculita, Vargas *et al.* (1986) mencionaron que en *C. capitata* la pupación sin sustrato puede afectar a los insectos debido al calor metabólico, al no existir un agente amortiguador entre pupas, lo cual podría contra restarse con temperaturas bajas en las salas de pupación. Durante todo el proceso de metamorfosis la pupa macho registró una pérdida total de  $7.4 \pm 0.5$  mg y la pupa hembra de  $8.52 \pm 0.82$  mg, lo que corresponde al 28.04 % y 28.99 % de pérdida de peso, respectivamente. Similar a lo reportado por Nestel *et al.* (2003), quienes mencionaron que en *C. capitata* la pérdida total es del 20 % de la totalidad de peso y es atribuido a la pérdida de agua en todo su desarrollo pupal.

El análisis de los pesos de pupa final (16 días después de recuperada la larva), evidenció que tanto las pupas macho como las hembras no resultaron con diferencia significativa al utilizar vermiculita y pupación desnuda, sin embargo al utilizar salvado de trigo se obtuvo un peso menor que cuando se utilizó vermiculita (Fig. 2A y B).

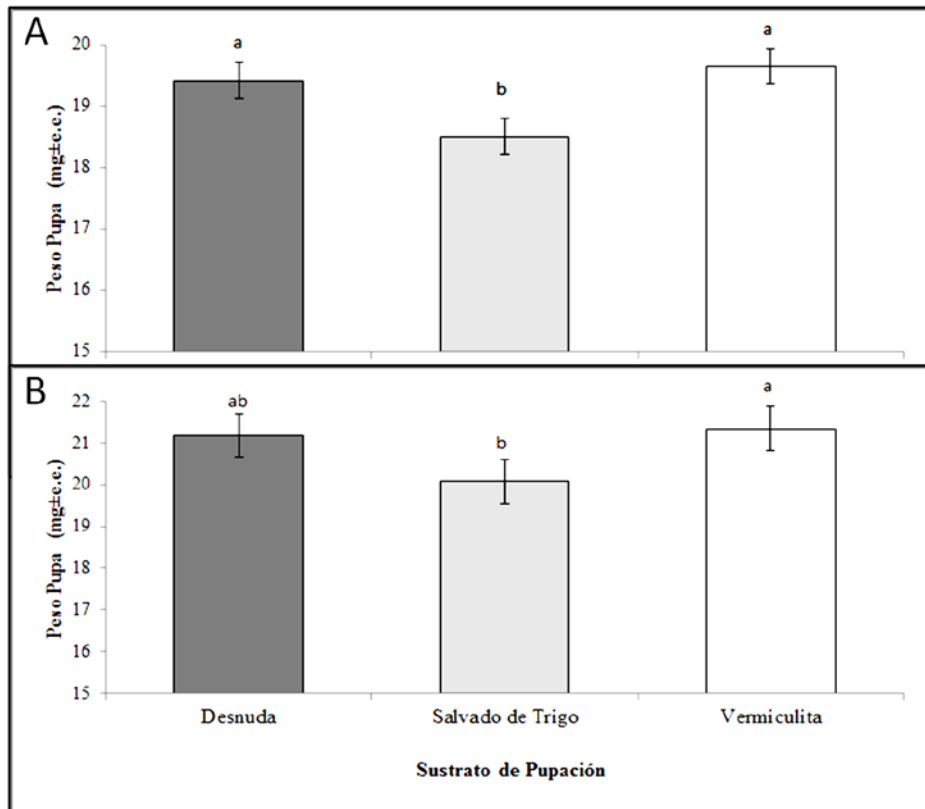


Fig. 2 Peso de pupa después de 16 días de recuperada la larva de la cepa sexada genéticamente Tapachula-7 de *A. ludens*. A). Pupa macho (pupario café). B). Pupa hembra (pupario negro).

Estos resultados fueron contrastantes con los reportados por Vargas *et al.* (1986), quienes reportaron que larvas de *C. capitata* pupadas en vermiculita presentaron mayor peso, que las pupadas sin sustrato. Sin embargo, adicionalmente nuestros resultados también indicaron que al usar otro sustrato como el salvado, el peso disminuyó en ambos sexos. Por otro lado, los pesos de pupa obtenidos en los tres métodos de pupación, se encuentran dentro de los estándares de calidad de moscas de la fruta (FAO/IAEA/USDA, 2003), esto atribuido a que los pesos promedio de las 48 larvas utilizadas para el estudio fueron altos (26.67 mg para larvas macho y 29.39 mg para larvas hembra). Resultando que las pupas macho fueron menos pesadas (19.19 mg) que las pupas hembras (21.07 mg) con una diferencia de 1.88 mg.

La longevidad para ambos sexos y en los tres métodos de pupación fluctuó alrededor de  $93.18 \pm 1.26$  hrs. para machos y  $88.14 \pm 1.53$  hrs. para hembras y no mostró diferencias significativas.

Concluimos que el patrón de pérdida de peso en las pupas durante la metamorfosis varió en los tres métodos de pupación, sin embargo la pérdida final entre los métodos de vermiculita y desnudo fue similar, mientras que el método que uso salvado de trigo resultó con efectos deletéreo.

## LITERATURA CITADA

- Downer, R. G. H., and J. R. Matthews. 1976. Patterns of lipid distribution and utilization in insects. *American Zoologist*, 16: 733-745.
- Downer, R.G.H. 1981. Physiological and environmental considerations in insect bioenergetics, pp. 1-17. In: R.G.H. Downer (ed.), *Energy Metabolism in Insects*. Plenum Press, New York.
- FAO/IAEA/USDA. 2003. Manual for product quality control and shipping procedures for sterile mass-reared Tephritidae fruit flies. Versión 5.0. International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria.
- Flores-García H. S., Hernández-Ortiz. E., J. Toledo. 2012. Desarrollo de un sistema de cría artificial para *Anastrepha fraterculus* (Wied) (Diptera: Tephritidae). *Acta Zoológica Mexicana*, 28(2): 321-340.
- Hernández, E., Artiaga-López T. y J. Domínguez-Gordillo. 2003. Métodos para la colonización y cría de moscas de la fruta. pp. 169-184. En: E. Hernández e Y. Gómez S. (Eds.) *Memorias del XV curso Internacional sobre moscas de la fruta*. Metapa de Domínguez, Chis, México.
- Langley P. A., Maly H., and E. Ruhm. 1972. Application of the sterility principle for the control of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*): pupal metabolism in relation to mass-rearing techniques. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 15:23-34.
- McInnis, D., Leblanc, L., and R. Mav. 2007. Melon fly (Diptera: Tephritidae). Genetic sexing: all-male sterile fly releases in Hawaii. *Proc. Hawaii. Entomol. Soc.* 39, 105-110.
- Nestel, D., D. Tolmasky, A. Rabossi, and L. A. Quesada-Allue. 2003. Lipid, carbohydrates and protein patterns during metamorphosis of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 96:237-244.
- Norma Oficial Mexicana (NOM). 1998. NOM-075-FITO-1997, por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarias para la movilización de frutos hospederos de moscas de la fruta. *Diario Oficial de la Federación*. 16 de marzo de 1998.
- Vargas, R. I., Chang H. B., Komura M. and D. S.Kawamoto. 1986. Evaluation of two pupation methods for mass production of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*. Vol: 79 N0. 3. pp. 864-867.
- Zepeda-Cisneros, C. S., de León-Crisóstomo, A. H., J.S. Meza-Hernández. 2011. Establecimiento del “sistema filtro” para la cepa sexada genéticamente “tapachula-7” de *anastrepha ludens* (díptera: Tephritidae). *Entomología Mexicana* vol. 10. Ed. S. G. Cruz Miranda, J. Tello Flores, A. Mendoza Estrada, A. Morales Moreno. Sociedad Mexicana de Entomología. México.
- Zepeda-Cisneros, C. S., Meza-Hernández, J. S., García-Martínez, V., Ibáñez-Palacios, J., Zacharopoulou, A., & G. Franz. 2014. Development, genetic and cytogenetic analyses of genetic sexing strains of the Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae). *BMC genetics*, 15 (Suppl 2), S1.